

日本国特許庁

JAPAN PATENT OFFICE

25.04.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 5月 2日

出願番号

Application Number:

特願2002-130883

[ST.10/C]:

[JP 2002-130883]

出願人

Applicant(s):

科学技術振興事業団

REC'D 20 JUN 2003

WIPO

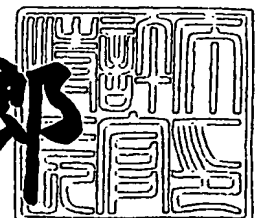
PCT

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 6月 2日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特2003-3042029

【書類名】 特許願
【整理番号】 P140056
【あて先】 特許庁長官 及川 耕造 殿
【国際特許分類】 C12Q 1/68
【発明者】
【住所又は居所】 東京都杉並区阿佐谷南 3 - 4 7 - 5 - 3 0 3
【氏名】 今井 一志
【特許出願人】
【識別番号】 396020800
【氏名又は名称】 科学技術振興事業団
【代表者】 沖村 憲樹
【代理人】
【識別番号】 100110168
【弁理士】
【氏名又は名称】 宮本 晴規
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 066992
【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 WNT（イ）の発現の亢進を検出することにより慢性関節リウマチを検出する方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 関節滑液または末梢血液におけるWNT（イ）の発現の亢進を検出することにより慢性関節リウマチを検出する方法。

【請求項2】 WNT（イ）の発現の亢進をRT-PCR法により検出することを特徴とする請求項1に記載の慢性関節リウマチを検出する方法。

【請求項3】 WNT（イ）10Bの発現の亢進を検出することを特徴とする請求項1または2に記載の慢性関節リウマチを検出する方法。

【請求項4】 FRP（イ）の発現の抑制を並行的に検出することを特徴とする請求項1、2または3に記載の慢性関節リウマチを検出する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、関節滑液または末梢血液におけるWNT（イタリック）〔以下、遺伝子の場合WNT（イ）と表現する〕、特にWNT（イ）10Bの発現の更新を逆転写（RT）PCR法などにより検出することによる慢性関節リウマチ（RA：rheumatoid arthritis）の検出法に関する。更に、FRP（イ）の発現の抑制を並行的に検出することを特徴とする前記慢性関節リウマチ（RA：rheumatoid arthritis）の検出法に関する。

【0002】

【従来技術】

RA診断にはアメリカリウマチ学会の定めた診断基準が本邦においても採用されている。該診断基準は、1）1時間以上続く朝のこわばり、2）3個所以上の関節の腫れ、3）手の関節の腫れ、4）対称性の関節の腫れ、5）手のX線写真の異常、6）皮下結節、7）血液検査でリウマチ反応が陽性、である。この基準のうち4項目以上を満たし、更に1）－4）に関しては6週間以上持続することを必要とする。この様に、診断基準は臨床所見に依存し診断時には既に病態が進

行しているため、治療開始時期が遅れ治療効果が得難く、患者本人の精神的肉体的経済的負担が大きくなる。

また、RAの生化学的検査方法として、リウマトイド因子 (rheumatoid factor) を検出する方法も利用されているけれども、該検出方法では擬陽性および擬陰性の確立が高く信頼性に問題があった。

従って、より早期にRA特異性の高い客観的診断技術を確立することが社会的急務である (<http://www.rheuma-net.or.jp/>)。

【0003】

一方、WNT (イ) ファミリーはヒトでは16種類の遺伝子配列が明らかになっており、ヒトゲノム配列解読から更に3種類が存在すると考えられる。WNT (イ) は癌原遺伝子として発見された遺伝子であり、C-MycやサイクリンD1の発現を誘導することで細胞の過剰な増殖を招く。近年、RA関節滑膜においてWNT (イ) 1、5A、10Bの発現が亢進し〔変形性関節症 (OA) 関節滑膜では発現しない〕、滑膜細胞による炎症性サイトカイン〔インターロイキン-6、8、15 (IL-6、8、15)〕の産生を促進することが報告された (Sen, M., Lauterbach, K., El-Gabawy, H., Firestein, G. S., Corr, M. and Carson, D. A. Expression and function of wntless and frizzled homologs in rheumatoid arthritis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97: 2791-2796, 2000.)。また、WNT (イ) は血管内皮細胞の増殖も促進することが知られている (Wright, M., Aikawa, M., Szto, W. and Papkoff, J. Identification of a WNT-responsive signal transduction pathway in primary endothelial cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 263: 384-388, 1999.)。しかしながら、WNT (イ)、特にWNT (イ) 10BのRA特異的発現を検出して、RA特異的診断が可能

であることを説明する言及はない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、関節滑液あるいは末梢血中のWNT（イ）の発現の亢進を検出することにより、RAを予防的に早期に発見する、RA特異的な診断方法を提供することである。

先ず、発生学的にWNT（イ）は様々な臓器に発現し、胎生期の器官形態形成に極めて重要な役割を果たしていることが報告されている（Moon, R. A., Brown, J. D. and Torres, M. WNTs modulate cell fate and behavior during vertebrate development. Trends Genet.13:157-162,1997.）。しかし、器官形成完了後において発現は停止することから、成体の維持に積極的役割を持たないと考えられる（Imai, K. and D'Armiento, J. 未発表）。このことと前記WNT（イ）発現とを対比して考えると、WNT（イ）発現はRA関節滑膜異常を招く、あるいは、促進する原因である可能性が考えられる。

【0005】

そこで、本発明者は関節破壊をきたす疾患であり関節滑膜の異常を伴うRAと異常を伴わないOAに発現するWNT（イ）とその特異的阻害分子であるFRP（イ）の発現プロファイルを明らかにした。その結果、WNT（イ）10BがRA特異的に発現する分子であり、他のWNT（イ）の発現率はRA、OAともに極めて低いことを確認した。また、WNT（イ）10BはRA関節滑膜組織の滑膜表層細胞と血管内皮細胞に局在していることも分かった。

逆にFRP（イ）はOA特異的に発現し、特に全てのOA症例で発現していたFRP（イ）1はWNT（イ）10Bと同様に滑膜表層細胞および血管内皮細胞に認められた。従って、OAにおいてはFRP（イ）が発現することでWNT（イ）を介した関節滑膜の異常を防いでいる可能性が高い。WNT（イ）を標的分子とし、合成ペプチド、化学合成物質や精製FRPタンパクを関節腔内あるいは血中に投与することで、WNT（イ）生物活性を阻害することは生体偽害性や副作用の少ない生物学的治療法として有用である可能性も高い。

RA特異的WNT（イ）、特にWNT（イ）10Bの発現が4／5の症例にお

いて確認されたことから、関節滑液あるいは末梢血中のWNT、特にWNT10Bの存在を測定することでRA特異的診断法を確立できることを確認し、前記本発明の課題を解決することができた。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は、関節骨膜、関節滑液または末梢血液におけるWNT（イ）の発現の亢進を検出することにより慢性関節リウマチを検出する方法である。

好ましくは、WNT（イ）の発現の亢進をRT-PCR法により検出することを特徴とする前記慢性関節リウマチを検出する方法であり、より好ましくは、WNT（イ）10Bの発現の亢進を検出することを特徴とする前記各慢性関節リウマチを検出する方法であり、一層好ましくは、FRP（イ）の発現の抑制を並行的に検出することを特徴とする前記各慢性関節リウマチを検出する方法である。

【0007】

【本発明の実施の態様】

本発明をより詳細に説明する。

A 関節滑膜の異常を伴うRAと異常を伴わないOAに発現するWNT（イ）とその特異的阻害分子であるFRP（イ）の発現プロファイルの作製。

（1）人口関節置換術により切除されたヒトRA（5例）あるいはOA（4例）の関節滑膜組織に発現する全RNAをChomczynski and Sacchiの方法に従い採取した。ゲノムDNAの混入を防ぐため、RNase-free DNase I で37℃30分間処理を行い、ゲノムDNAを分解した。

【0008】

（2）5μg全RNAをオリゴd（T）プライマー（Gibco BRL, Gaithersburg, Germany）および逆転写酵素（SuperScript II, Gibco BRL）を用いて1st strand cDNA（50μl）を合成した。その後、1μlのcDNAを鋳型として94℃5分間加熱後、配列表および図1に示すプライマーとTaq DNAポリメラーゼ（Gibco BRL）を用いてPCR反応を行った。一検体50μLにて熱変性を94℃30秒、アニーリング温度〔前記図1〕で30秒、伸長反応1分間行い、これを1サイクルとして計30サイクル繰り返した。反応終了後の試料を2%アガロースゲル

電気泳動し、PCR増幅反応の有無を確認した。

【0009】

WNT (イ) 10Bは極めて高率(4/5例)にRA組織に発現していたが、OAでは1/4例に陽性であった。他のWNT (イ) に関してはいずれも発現率が低いか発現していなかった。FRP (イ) 1は全てのOAで発現し、FRP (イ) 2とFRP (イ) 4は2/4例、FRP (イ) 3とFRP (イ) 5は1/4例にみられた。RAではいずれのFRP (イ) 遺伝子ともに1/5例に陽性あるいは発現していなかった〔(図2)〕。

【0010】

ホルマリンあるいはパラホルムアルデヒド固定したヒトRAあるいはOA関節滑膜組織のパラフィン包埋切片を脱パラフィン後、エタノール系列で親水処理、0.01M (モル) クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.0) 中で電子レンジ加熱処理 (500W、4分間3回) を行った。次に、組織切片を正常ヤギ血清、正常ロバ血清、正常ウサギ血清あるいは1%ウシ血清アルブミンで30分間室温処理し、ヤギ抗Wnt 10b抗体 (1 μ g/ml, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, 米国)、ヤギ抗Frp 1抗体 (2 μ g/ml, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, 米国) あるいはウサギ抗 von Willbrand Factor (vWF) 抗体 (200倍希釈、DACO, Carpinteria, CA, 米国) と反応した。その後、Alexa Fluor 546抗ウサギ抗体、Alexa Fluor 546抗ヤギ抗体 (Molecular Probes, Eugene, OR, 米国) あるいはFITC標識抗ヤギ抗体 (Vector, Burlingame, CA, 米国) と90分間室温でインキュベートし、蛍光顕微鏡を用いて各抗原の組織内局在を同定した。

RA関節滑膜においてWNT 10Bは滑膜表層細胞および血管内皮細胞に局在していた。OA関節滑膜においては反応はみられなかった。逆にFrp 1はOAにおいて滑膜表層細胞と血管内皮細胞に局在していたが、RA組織では陰性であった。

WNT 10BおよびFRP 1の血管内皮細胞への局在は、血管内皮細胞に特異的に反応する抗vWF抗体との二重染色法で確認された。

【0011】

該染色法により得られた免疫組織染色写真像から、RA関節滑膜におけるWNT（イ）10B陽性細胞（RA組織）の局在発現、およびOA関節滑膜におけるFRP1陽性細胞（OA組織）の局在発現を観察することができた。

【0012】

【発明の効果】

本発明者は、関節破壊をきたす疾患であり関節滑膜の異常を伴うRAと異常を伴わないOAに発現するWNT（イ）とその特異的阻害分子であるFRP（イ）の発現プロファイルを明らかにし、逆転写（RT）-PCRプライマーを用いた逆転写（RT）-PCR法、特に、WNT（イ）10BまたはWNT（イ）10BおよびFRP（イ）1のRT-PCR法による遺伝子発現における遺伝子増幅の陰陽によりRA特異的診断法を確立したものであり、簡易で確実なRA特異的診断法を確立することができた、という優れた作用効果がもたらされる。

【0013】

以下に、図1に記載のPCRプライマーの遺伝子配列を示す。

【配列表】

<110>Japan Science and Technology Corporation

<120>WNT（イ）の発現の亢進を検出することにより慢性関節リウマチを検出する方法

<160>44

<210>1

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>1

5'-tcctgctcag aaggttccat

<210>2

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>2

5'-gctgtacgtg cagaagttgg

<210>3

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>3

5'-ctgtatcagg gaccgagagg

<210>4

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>4

5'-caaagagaac tcgccaggag

<210>5

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>5

5'-actgagtgtg tgcagctgtg

<210>6

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>6

5'-tgatgtcttg ctgcagacac

<210>7

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>7

5'-acttcggcgt gttagtctcc

<210>8

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>8

5'-atttttcctt ccgcttctcc

<210>9

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>9

5'-ttgaggagtg ccactaccag

<210>10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<400>10

5'-ttgaactgtg cgttgcgtgg

<210>11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<400>11

5'-cagttcaaga ccgtgcagac

<210>12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<400>12

5'-tggaacctac ccatcccata

<210>13

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<400>13

5'-gtgctgcttc gtcaggtgta

<210>14

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>14

5'-cgaggttgaa gctgagttcc

<210>15

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>15

5'-caactgcaca acaacgaggc

<210>16

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>16

5'-gtactacgca gcaccagtgg

<210>17

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>17

5'-gagaagcaag gccagttacca

<210>18

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>18

5'-acagcacatg aggtcacagc

<210>19

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>19

5'-acatgctatc agctctgctg

<210>20

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>20

5'-aaagatcagt tccgcctctg

<210>21

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>21

5'-gaaagtggca agctttggag

<210>22

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>22

5'-gaaagtggca agctttggag

<210>23

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>23

5'-aatgaggcttcacaacaacc

<210>24

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>24

5'-tcatgtggtc caatctcctc

<210>25

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>25

5'-cttcattgat acccacaacc

<210>26

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>26

5'-attgttgggg agaaggctac

<210>27

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>27

5'-tgacctcaag acccgatacc

<210>28

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>28

5'-caagtgaagg caaagcacao

<210>29

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>29

5'-aagatggtgc caacttcacc

<210>30

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>30

5'-taaggaacca gccaggacac

<210>31

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>31

5'-gtgacaccac cttgcagaac

<210>32

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>32

5'-accctctgat gtacggttgc

<210>33

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>33

5'-cttgttcttg cagcattccc

<210>34

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>34

5'-agagaaggca atgcctctcc

<210>35

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>35

5'-aaagacagct tgcagtgcac

<210>36

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>36

5'-tgttatgaca acctcagtgg

<210>37

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>37

5'-cattgacttc cagcacgagc

<210>38

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>38

5' -acgaagcttc atatcccagc

<210>39

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>39

5' -agaggagtggctgcaatgag

<210>40

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>40

5' -tggccttacataggctgtcc

<210>41

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>41

5' -aagtggatgg acagctgctg

<210>42

<211> 20

<212>DNA

<213> Artifificial

<400>42

5'-tactttctga gaccctgagg

<210>43

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>43

5'-gtcagtggtg gacctgacct

<210>44

<211> 20

<212>DNA

<213> Artificial

<400>44

5'-aggggagctt cagtgtggtg

【図面の簡単な説明】

【図1】 WNT（イ）およびFRP（イ）のRT-PCRプライマー塩基配列と増幅条件

【図2】 図1のRT-PCRによる遺伝子発現パターン

【図3】 RT-PCRによるWNT（イ）3、WNT（イ）5A、WNT（イ）10BおよびWNT（イ）14発現の検出

【図4】 RT-PCRによるFRP（イ）1～5発現の検出。

【書類名】 図面

【図 1】

RT-PCR プライマー塩基配列とアニーリング温度

プライマー		配 列	アニーリング温度℃
WNT1	(forward)	5'-TCCTGCTCAGAAGGTTCCAT	54
	(reverse)	5'-GCTGTACGTGCAGAAGTTGG	
WNT2	(forward)	5'-CTGTATCAGGGACCGAGAGG	51
	(reverse)	5'-CAAAGAGAACTCGCCAGGAG	
WNT2B	(forward)	5'-ACTGAGTGTGTGCAGCTGTG	54
	(reverse)	5'-TGATGTCTTGCTGCAGACAC	
WNT3	(forward)	5'-ACTTCGGCGTGTAGTCTCC	54
	(reverse)	5'-ATTTTTCCTTCCGCTTCTCC	
WNT4	(forward)	5'-TTGAGGAGTGCCACTACCAG	54
	(reverse)	5'-TTGAACTGTGCGTTGCGTGG	
WNT5A	(forward)	5'-CAGTTCAAGACCGTGCAGAC	58
	(reverse)	5'-TGGAACCTACCCATCCCATA	
WNT5B	(forward)	5'-GTGCTGCTTCGTCAGGTGTA	54
	(reverse)	5'-CGAGGTTGAAGCTGAGTTCC	
WNT6	(forward)	5'-CAACTGCACAACAACGAGGC	54
	(reverse)	5'-GTACTACGCAGCACCAGTGG	
WNT7A	(forward)	5'-GAGAAGCAAGGCCAGTACCA	54
	(reverse)	5'-ACAGCACATGAGGTCACAGC	
WNT8A	(forward)	5'-ACATGCTATCAGCTCTGCTG	54
	(reverse)	5'-AAAGATCAGTTCCGCCTCTG	
WNT8B	(forward)	5'-GAAAGTGGCAAGCTTTGGAG	54
	(reverse)	5'-GAAAGTGGCAAGCTTTGGAG	
WNT10A	(forward)	5'-AATGAGGCTTCACAACAACC	54
	(reverse)	5'-TCATGTGGTCCAATCTCCTC	
WNT10B	(forward)	5'-CTTCATTGATACCCACAACC	58
	(reverse)	5'-ATTGTTGGGGAGAAGGCTAC	
WNT11	(forward)	5'-TGACCTCAAGACCCGATACC	54
	(reverse)	5'-CAAGTGAAGGCAAAGCACAA	
WNT14	(forward)	5'-AAGATGGTGCCAACTTCACC	58
	(reverse)	5'-TAAGGAACCAGCCAGGACAC	
WNT16	(forward)	5'-GTGACACCACCTTGCAAGAC	54
	(reverse)	5'-ACCCTCTGATGTACGGTTGC	
FRP1	(forward)	5'-CTTGTTCTTGCAAGCATTCCTC	54
	(reverse)	5'-AGAGAAGGCAATGCCTCTCC	
FRP2	(forward)	5'-AAAGACAGCTTGCAAGTGCAC	54
	(reverse)	5'-TGTTATGACAACCTCAGTGG	
FRP8	(forward)	5'-CATTGACTTCCAGCACGAGC	56
	(reverse)	5'-ACGAAGCTTCATATCCCAGC	
FRP4	(forward)	5'-AGAGGAGTGGCTGCAATGAG	58
	(reverse)	5'-TGGCCTTACATAGGCTGTCC	
FRP5	(forward)	5'-AAGTGGATGGACAGCTGCTG	54
	(reverse)	5'-TACTTTCTGAGACCCTGAGG	
GAPDH	(forward)	5'-GTCAGTGGTGGACCTGACCT	52
	(reverse)	5'-AGGGGAGCTTCAGTGTGGTG	

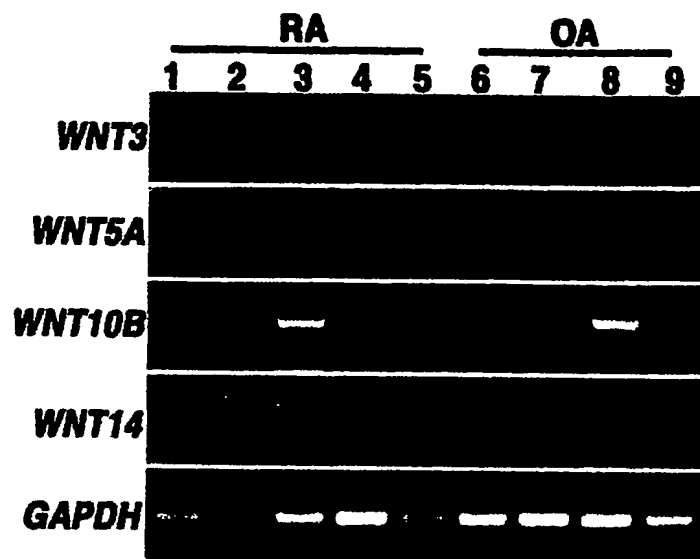
【図2】

RT-PCR による遺伝子発現パターン

	RA					OA			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
WNT1	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT2	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT2B	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WNT4	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT5A	-	-	+	-	-	-	-	-	-
WNT5B	-	-	-	+	-	-	ND	+	-
WNT6	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT7A	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT8A	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT8B	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT10A	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
WNT10B	+	+	+	+	-	-	-	+	-
WNT11	-	-	-	-	-	-	ND	+	-
WNT14	-	-	-	+	-	-	-	+	-
FRP1	-	-	-	+	-	+	+	+	+
FRP2	-	-	-	+	-	-	-	+	+
FRP3	-	-	-	-	-	-	-	+	-
FRP4	-	-	-	+	-	-	-	+	+
FRP5	-	-	-	-	-	-	-	+	-

∴ 遺伝子増幅なし、+：遺伝子増幅あり、ND：未検討

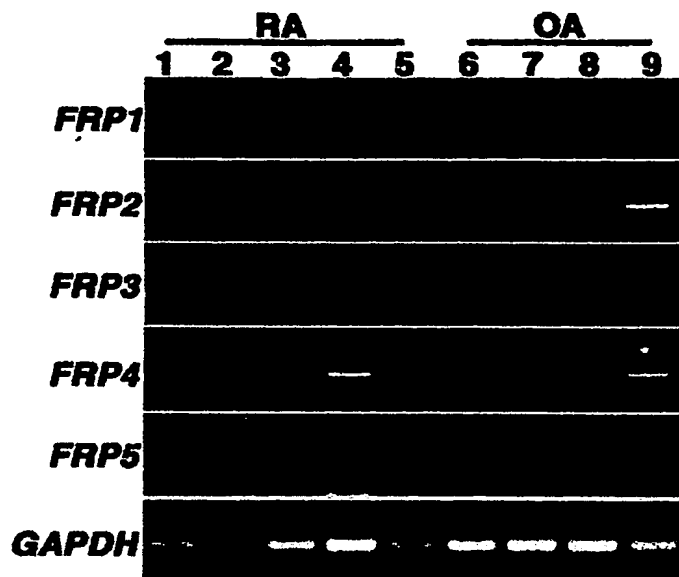
【図3】



WNT 遺伝子発現の解析。

RA（レーン 1～5）および OA（レーン 6～9）関節滑膜組織に発現する WNT3, 5A, 10B, 14 を RT-PCR 法で解析した。

【図4】



FRP 遺伝子の発現。

RA (レーン 1~5) および OA (レーン 6~9) 関節滑膜組織に発現する
FRP 遺伝子を RT-PCR 法で解析した。

【書類名】 要約書

【要約】

【目的】 簡易で、精度が高い予診性のRA特異的診断法の提供

【構成】 関節滑液または末梢血液におけるWNT（イ）の発現の亢進を検出することにより慢性関節リウマチを検出する方法。

【選択図】 図2

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-130883
受付番号	50200645736
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成14年 5月 7日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年 5月 2日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [396020800]

1. 変更年月日 1998年 2月24日

[変更理由] 名称変更

住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
氏 名 科学技術振興事業団

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.